

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 04-279569
(43)Date of publication of application : 05.10.1992

(51)Int.Cl.

C07D233/64
C07D233/70
G01N 21/78

(21)Application number : 03-063706

(71)Applicant : MANAC INC

(22)Date of filing : 06.03.1991

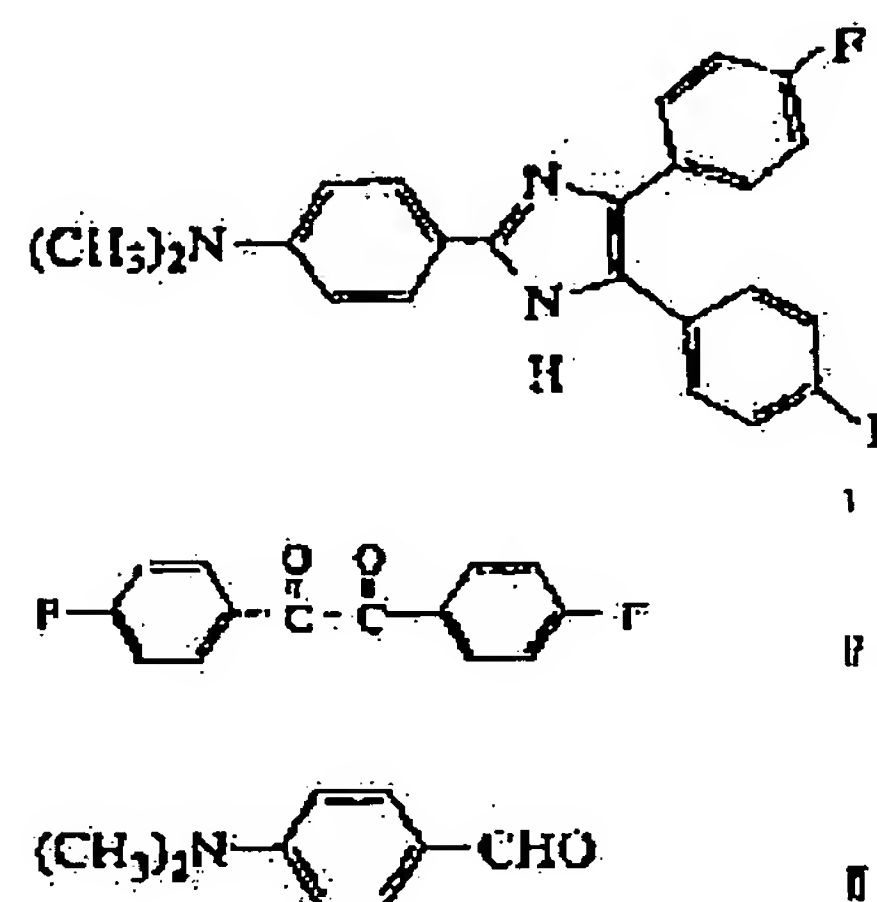
(72)Inventor : KIMURA MASARU
KURA HISATOSHI
MOROSAWA SHIRO
EMIRU EICHI HOWAITO

(54) LOPHINE DERIVATIVE

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a new compound having large luminescence yield as an analytical reagent and useful for in vitro diagnosis of blood levels of various kinds of hormones in a living body.

CONSTITUTION: A compound expressed by formula I, e.g. 2-(p-dimethylaminophenyl)-4,5-di(p-methoxyphenyl)-imidazole. The compound is obtained by heating 4,4'-difluorobenzyl expressed by formula II and 4-dimethylaminobenzaldehyde expressed by formula III together with excess ammonium acetate in acetic acid under reflux, pouring the reaction mixture into ice water after finishing reaction and recrystallizing the resultant crystal from a solvent such as methanol or ethanol.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平4-279569

(43) 公開日 平成4年(1992)10月5日

| (51) Int.Cl. ⁵ | 識別記号 | 庁内整理番号 | F I | 技術表示箇所 |
|---------------------------|-------|---------|-----|--------|
| C 0 7 D 233/64 | 1 0 1 | 7252-4C | | |
| 233/70 | | 7252-4C | | |
| G 0 1 N 21/78 | C | 7235-2J | | |

審査請求 未請求 請求項の数2(全 5 頁)

(21) 出願番号 特願平3-63706

(22) 出願日 平成3年(1991)3月6日

特許法第30条第 項適用申請有り 1990年9月30日・10月1日・2日 京都工芸繊維大学主催の「光化学討論会」において文書を持つて発表

(71) 出願人 000113780

マナツク株式会社

広島県福山市西町2丁目10番1号

(72) 発明者 木村 勝

岡山県岡山市絵図町9-37-10

(72) 発明者 倉 久稔

兵庫県多紀郡篠山町後川上522-1

(72) 発明者 諸沢 四郎

岡山県邑久郡邑久町尾張1254-5

(74) 代理人 弁理士 津国 肇 (外1名)

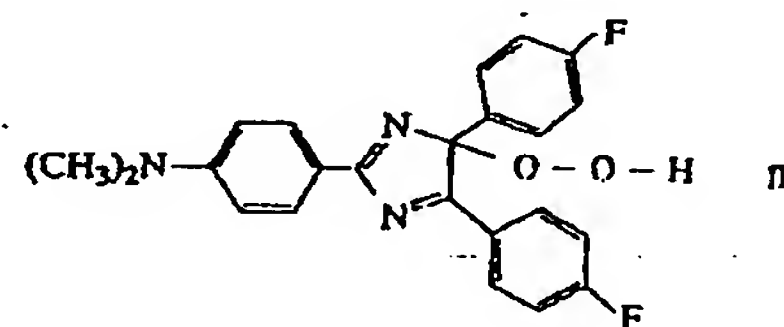
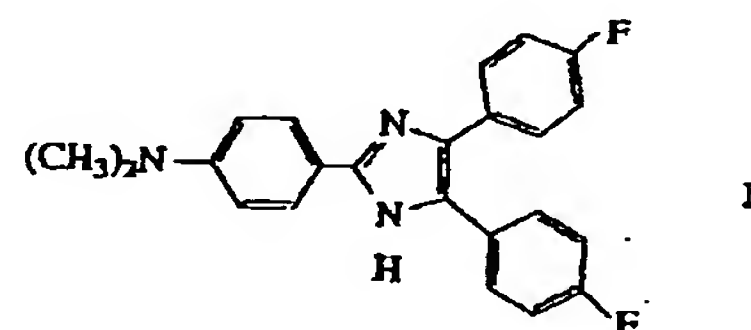
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ロフィン誘導体

(57) 【要約】 (修正有)

【構成】 式I及びIIで示される2-(p-ジメチルアミノフェニル)-4,5-ジ(p-フルオロフェニル)-イミダゾール及び2-(p-ジメチルアミノフェニル)-4,5-ジ(p-フルオロフェニル)ハイドロパーオキシ-4H-イソイミダゾール。

【効果】 新規な化学発光物質であって、高い測定感度が要求される生体分野の分析において、放射線同位元素に代る分析試薬として有用である。



1

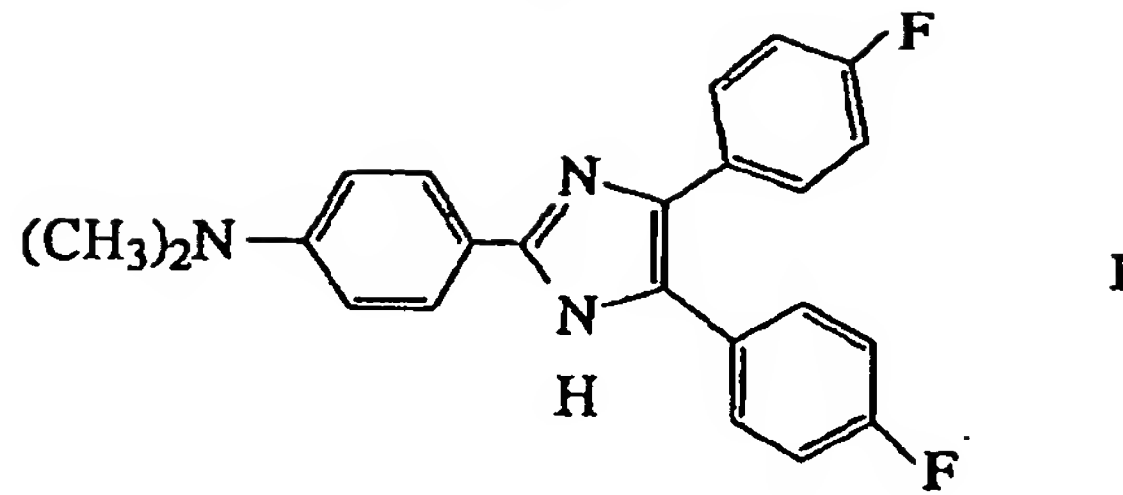
2

【特許請求の範囲】

【請求項1】 式

* 【化1】

*

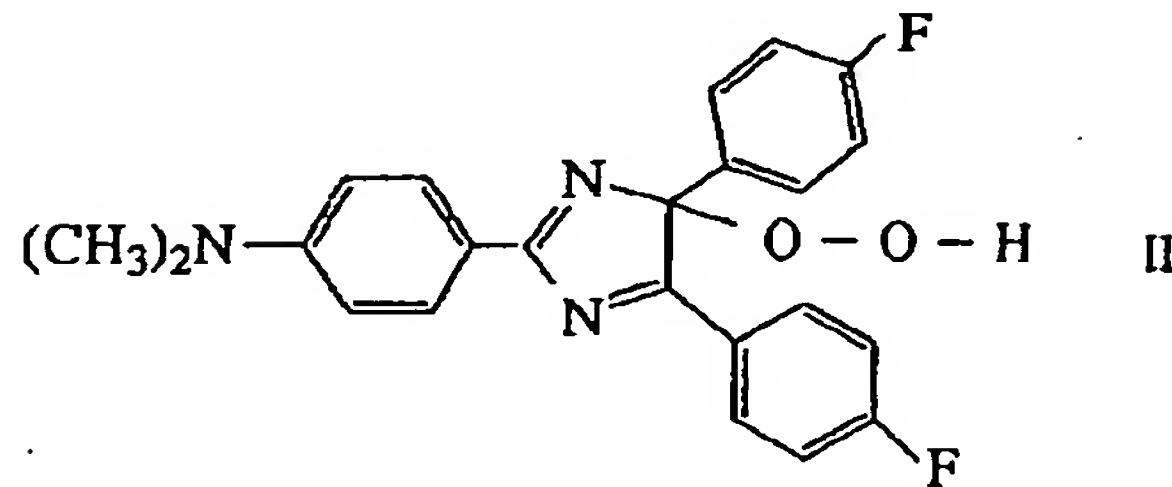


で示されるロフィン誘導体。

【請求項2】 式

※ 【化2】

※



で示されるロフィン過酸化物誘導体。

【発明の詳細な説明】

【0001】

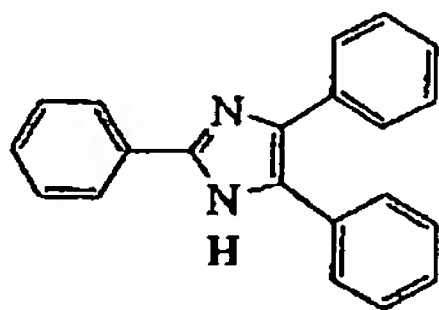
【産業上の利用分野】本発明は、新規なロフィン誘導体又はその過酸化物誘導体からなり、更に詳しくは、アルカリの存在下、酸素と反応して化学発光するロフィン誘導体に関する。

【0002】

【従来の技術】ロフィンは、式

【0003】

【化3】

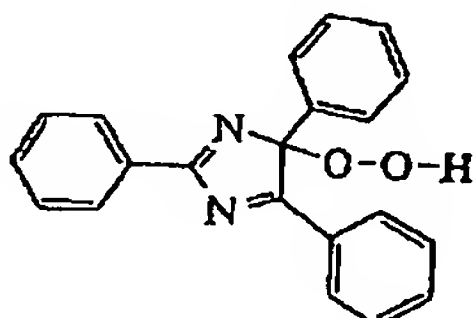


【0004】で表される2, 4, 5-トリフェニルイミダゾールであり、アルカリの存在下、酸素と反応して化学発光することが知られ、その誘導体もいくつか知られている (Journal of Photochemistry and Photobiology, vol4, pp1129-1155(1965))。

【0005】式 IIIで表されるロフィンは、酸素と反応して、式

【0006】

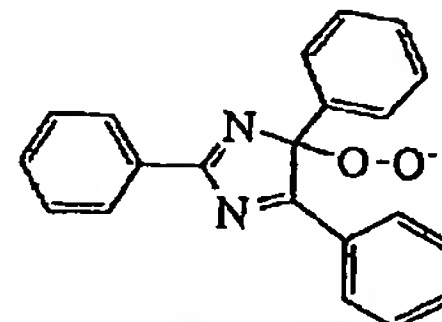
【化4】



【0007】で表されるロフィン過酸化物になり、更にアルカリによって、式

【0008】

【化5】



30 【0009】で表される中間体を経て化学発光することが前述の文献に記載されている。

【0010】また、ロフィン(III)のフェニル基に種々の置換基を有するロフィン誘導体も、アルカリの存在下、酸素と反応して化学発光する。それらの発光収量は置換基により異なり、ロフィンよりも高い発光収量を示すものも前述の文献にいくつか知られている。

【0011】これらの化学発光物質は、極微量でも発光するため、放射線同位元素を使用しない新しい分析試薬として、最近注目を浴びている。

【0012】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、従来知られているロフィンより、高い発光収量を持つロフィン誘導体を提供することにある、発光収量が大きいため、生体における各種ホルモンの血中濃度の体外診断、或いは血痕の鑑識などに利用され、発光収量が高いほど検出感度を高めることができる。

【0013】

【課題を解決するための手段】本発明者のロフィン誘導体においては、化学発光機構において律速となる酸素の
50 オフィンへのアタックを容易にするため、イミダゾール

3

環の4、5位に強い電子吸引基であるp-フルオロフェニル基を導入した。その結果、これまでに知られている最も高い化学発光収量を示すロフィン誘導体[2-(p-ジメチルアミノフェニル)-4,5-ジ(p-メトキシフェニル)-イミダゾール]に比べて、7倍という高*

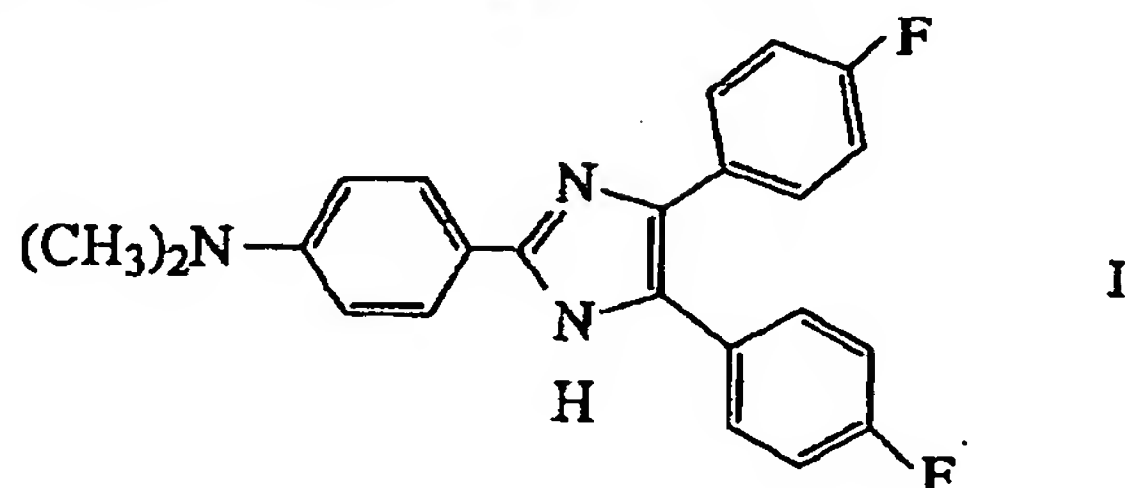
*い発光収量を持つことがわかった。

【0014】すなわち、本発明の新規化合物は、次式

(I)

【0015】

【化6】

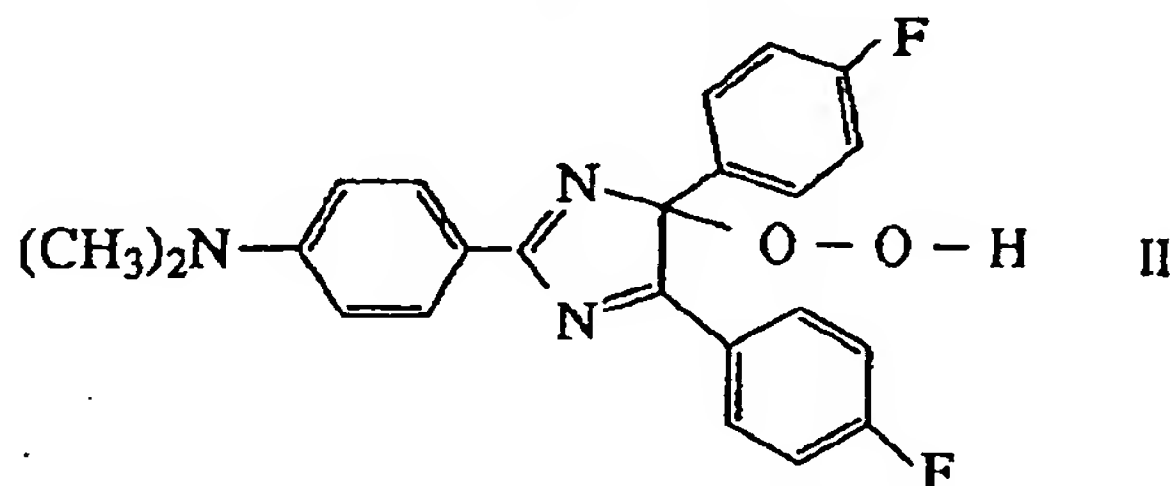


【0016】のロフィン誘導体並びに化合物(I)と酸素が反応した次式(II)

※【0017】

※

【化7】

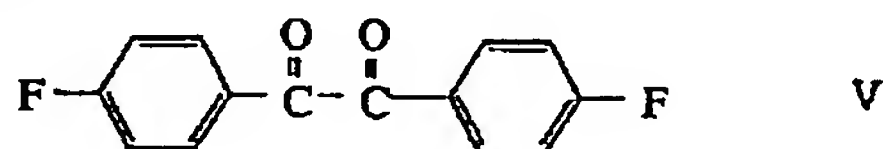


【0018】で示されるロフィン過酸化誘導体である。

【0019】本発明の化合物は、次の工程により合成することができる。まず、第一の工程は、次式：

【0020】

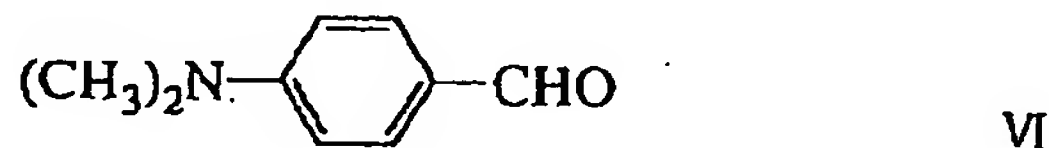
【化8】



【0021】で示される4,4'-ジフルオロベンジルと、次式：

【0022】

【化9】



【0023】で示される4-ジメチルアミノベンズアルデヒドを、過剰の酢酸アンモニウムとともに酢酸中で加熱還流させ、反応終了後、氷水中へ反応物を注ぎ、得られる結晶物をメタノール、エタノールのようなアルコール溶媒で再結晶することにより、式(I)の化合物を容易に製造することができる。

【0024】得られたロフィン誘導体(I)を塩化メチレンとエタノールの混合溶媒に溶解することにより、式(II)ロフィン過酸化誘導体を製造できる。この化合物(II)は熱に対して不安定なため-78℃以下で処理し、単離する。

【0025】

【実施例】実施例1

2-(p-ジメチルアミノフェニル)-4,5-ジ(p-メトキシフェニル)-イミダゾールの合成

【0026】4,4'-ジフルオロベンジル120mg

(0.49mmol)、4-ジメチルアミノベンズアルデヒ

ド98mg(0.65mmol)及び酢酸アンモニウム240

mg(3.11mmol)を酢酸中5ml中に添加し、120℃

で2時間反応させた。冷却後、反応物を氷水中へ注ぎ、

析出する結晶物を吸引濾過した。得られた粗成物をメタ

ノールから再結晶し、吸引濾過、減圧乾燥して黄色粉末

の標記化合物を得た。収量92mg(収率50%)。この

融点、NMRを測定した結果を次に示す。

融点：226-227℃

NMR(CDCl₃) ppm: 3.01(s, 6H), 6.71(s, 2H), 6.99(t, 4H),

7.45(s, 4H), 7.83(s, 2H)

【0027】化学発光収量の測定

上記の方法で得られた化合物(I)30mg(8.0×10⁻⁵mmol)

を塩化メチレンに溶解して濃度1.1×10⁻³mol/lの溶液を調製した。調製した溶液1mlに、1N

のアルコール性水酸化カリウム1mlを添加後、発光させ

波長490nmに最大ピークを持つ蛍光が観察された。発

光量の測定は、光ダイオードアレイによる瞬間マルチ測

光法を利用した。この蛍光スペクトルを図1に示した。

【0028】比較例1

また、上記と同様な方法で得られるロフィン(2,4,

5-トリフェニル-イミダゾール)を塩化メチレンに溶

解した濃度 $2.0 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$ の溶液 1 ml に、1 N のアルコール性水酸化カリウム 1 ml を添加後、最大ピーク波長 530 nm を有する蛍光スペクトルを図 2 に示した。

【0029】比較例 2

従来最も高い化学発光収量を示す 2- (p-ジメチルアミノフェニル) -4, 5-ジ (p-メトキシフェニル) -イミダゾールを、同様に $1.1 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$ の塩化メチレン溶液を調製し、1 N の水酸化カリウムで発光させた蛍光スペクトルを図 3 に示した。

【0030】図 1、図 2、図 3 のスペクトル面積比 (発光量) から、比較例 2 の化合物の化学発光収量はロフィンに対して 30 倍であるのに対して、実施例 1 の化合物の化学発光収量は、比較例 1 のロフィンに対して 200 倍、比較例 2 のロフィン誘導体に対して 7 倍という非常に大きな発光を示すことが判明した。

【0031】実施例 2

2- (p-ジメチルアミノフェニル) -4, 5-ジ (p-フルオロフェニル) ハイドロパーオキシ-4H-イソイミダゾールの合成

【0032】2- (p-ジメチルアミノフェニル) -4, 5-ジ (p-フルオロフェニル) -イミダゾール 50 mg を塩化メチレン 18 ml と無水メタノール 2 ml の混合溶媒中に素早く溶解し、酸素を吹き込みながら -78°C に冷却し、太陽灯を 2~3 時間照射した。次に、減圧下で溶媒を除去し、淡黄色結晶の表記化合物を得た。析出した結晶物を凍結乾燥した。収量 37 mg (収率 69

%)。この融点、NMR を測定した結果を次に示す。

融点: $105-106^\circ\text{C}$

NMR (CDCl_3) ppm: 3.06 (s, 6H), 6.70 (d, 2H), 7.00 (t, 2H), 7.17 (t, 2H), 7.43 (t, 2H), 7.89 (s, 2H), 8.35 (dd, 2H)

【0033】化学発光収量の測定

上記の方法で得られた化合物 30 mg ($7.4 \times 10^{-5} \text{ mol}$) を塩化メチレンに溶解した濃度 $1.1 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$ の溶液及びロフィンの塩化メチレン溶液 (2.0×10^{-3}) を実施例 1 と同様に化学発光させ、それぞれの蛍光スペクトルを測定した。両スペクトル面積比 (発光量) から、実施例 2 の化合物の化学発光収量は、ロフィンに比べ 300 倍と非常に大きいことが判明した。

【0034】

【発明の効果】式 (I) 及び式 (II) で表されるロフィン誘導体及びその過酸化物誘導体は、高い化学発光収量を示した。それ故、本発明の化合物は高い測定感度が要求される生体分野の分析において、放射線同位元素に代わる新しい分析試薬として有用である。

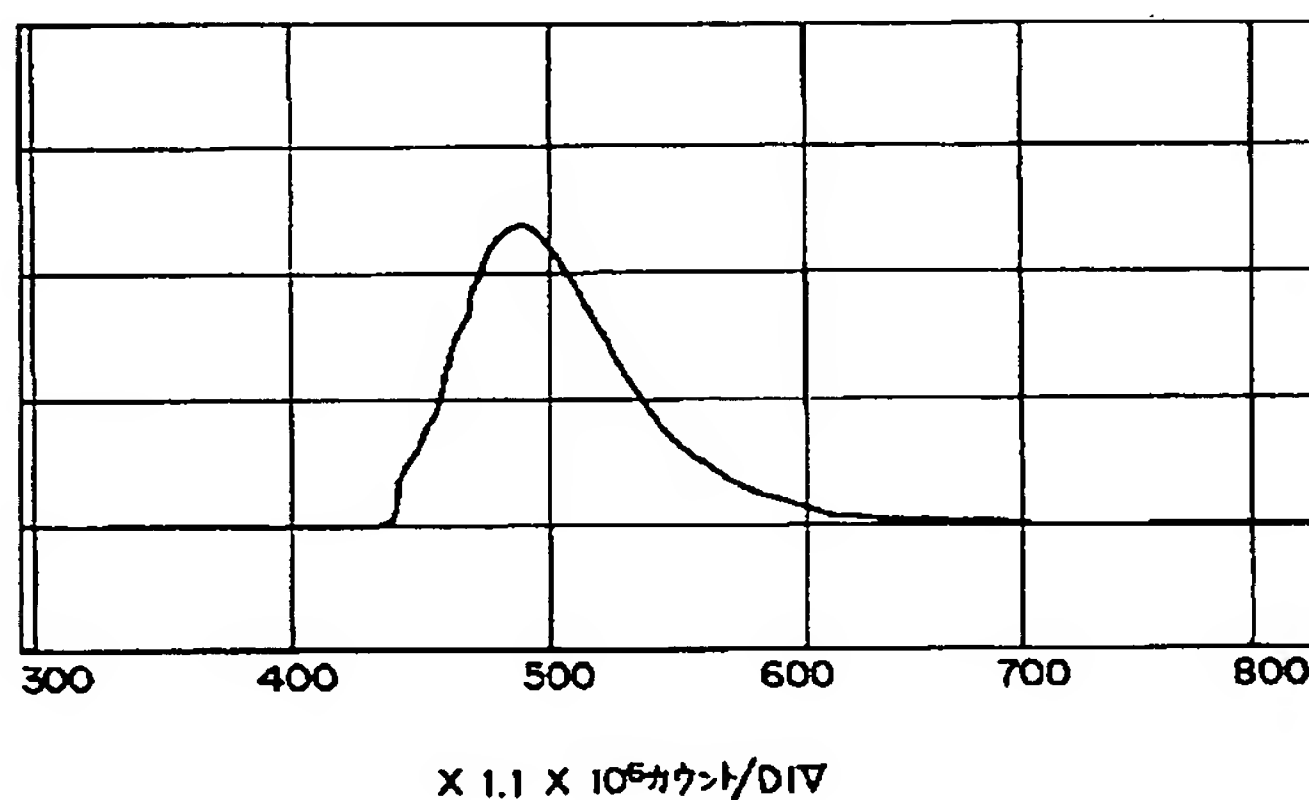
【図面の簡単な説明】

【図 1】実施例 1 の化合物の蛍光スペクトル図

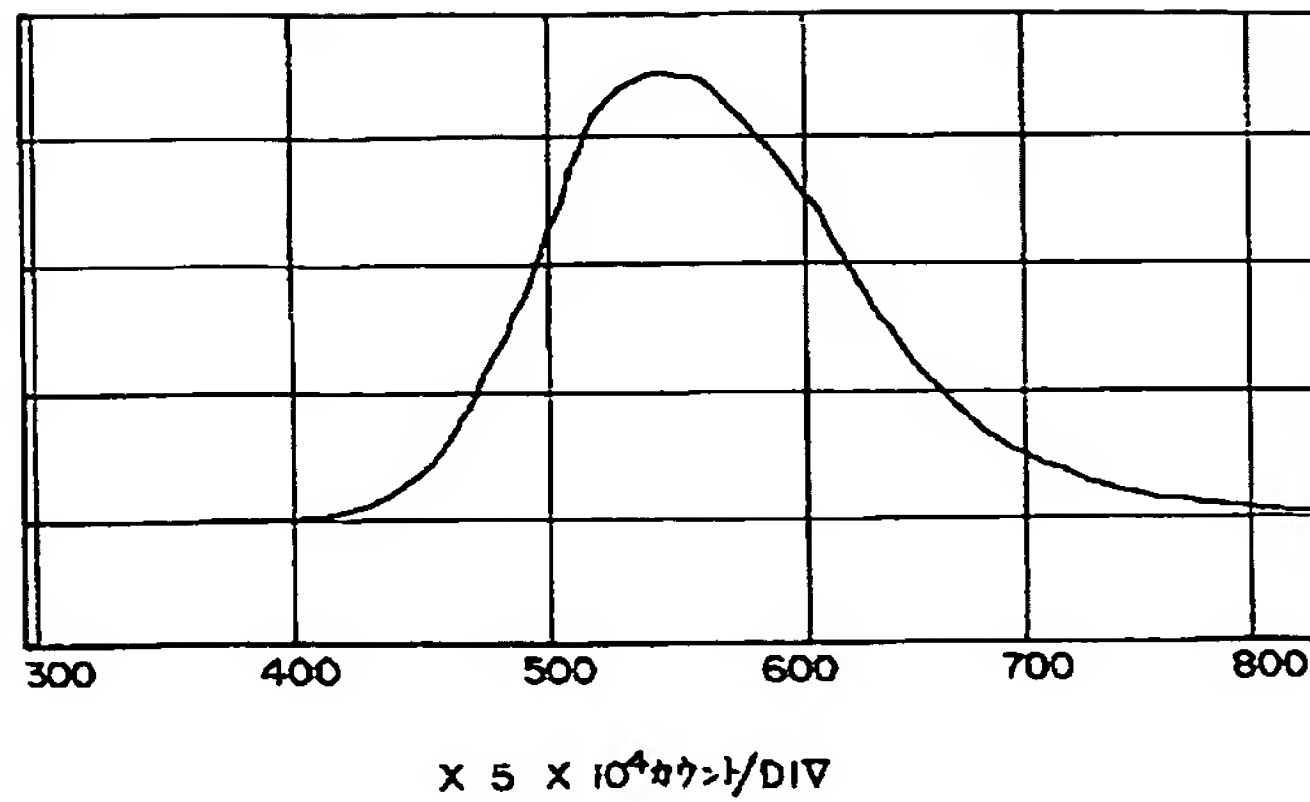
【図 2】標準物質の 2, 4, 5-トリフェニルイミダゾールの蛍光スペクトル図

【図 3】比較の 2- (p-ジメチルフェニル) -4, 5-ジ (p-メトキシフェニル) -イミダゾールの蛍光スペクトル図

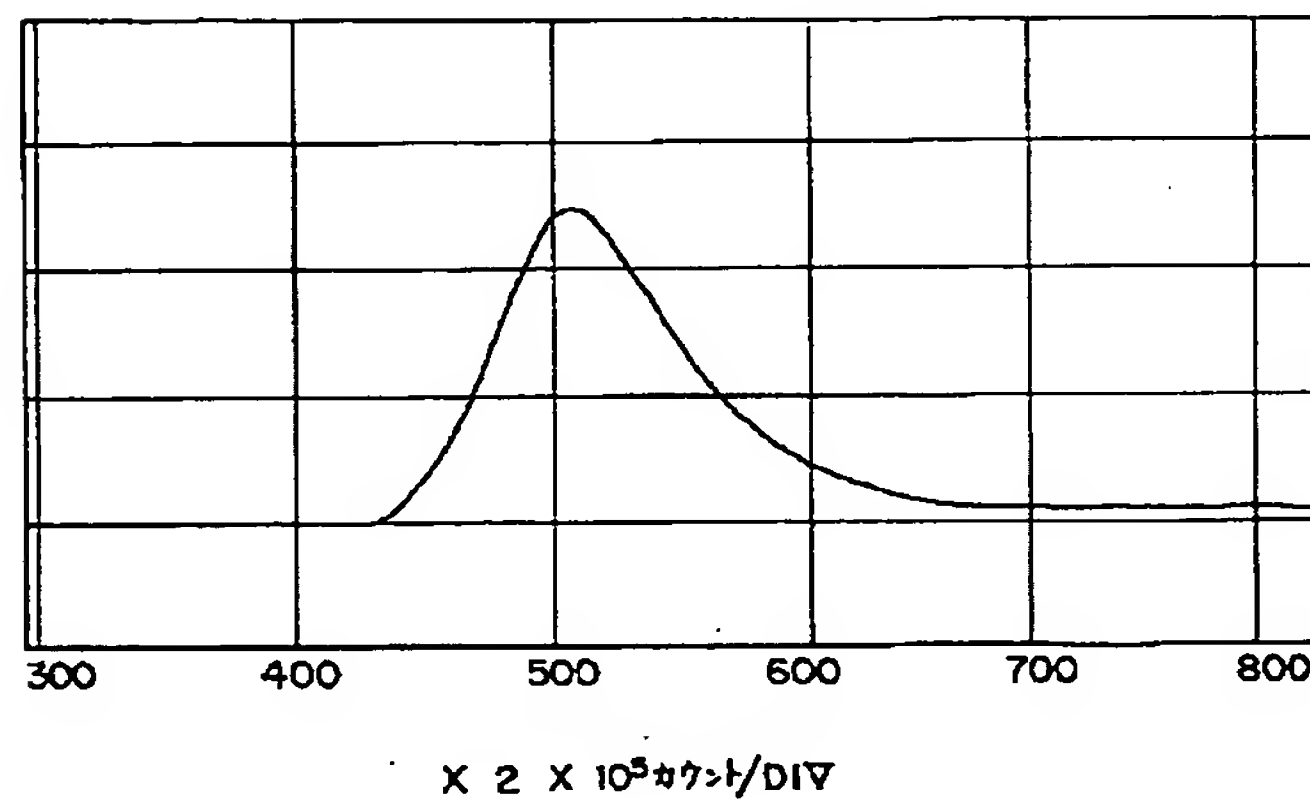
【図 1】



【図2】



【図3】



フロントページの続き

(72)発明者 エミル・エイチ・ホワイト
 アメリカ合衆国、メリーランド 21218、
 ボルティモア、チャールス・アンド・34ス
 トリート（番地なし） ザ・ジョンス・ホ
 プキンス・ユニバーシティ内